

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГУН

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии



И.А. Дятлов

2008 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для бактериологических исследований
«Питательный агар для выделения листерий (СРЕДА ПАЛ)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Питательный агар для выделения листерий (СРЕДА ПАЛ)» предназначен для выделения листерий из клинического материала и пищевых продуктов при их бактериологическом исследовании.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Набор реагентов состоит из одной банки со средой ПАЛ и 5 флаконов с селективной добавкой (СД).^{*)}

Среда ПАЛ представляет собой мелкодисперсный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

СД представляет собой мелкодисперсный порошок розового цвета. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

Среда ПАЛ выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г, СД во флаконах по 0,045 г.

2.1. Принцип действия

Выделение листерий основано на их способности гидролизовать эскулин с образованием эскулетина, который в присутствии ионов железа образует коричнево-черный комплекс, что приводит к потемнению среды вокруг колоний. Ингибиторы подавляют рост сопутствующей микрофлоры.

^{*)} Возможен выпуск набора реагентов в комплектации по требованию заказчика

2.2. Состав

Среда ПАЛ, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки	7,5
Пептон	7,5
Панкреатический гидролизат казеина (ПГК)	10,0
Дрожжевой экстракт.....	2,0
Литий хлористый	13,0
Эскулин	0,8
Железо (III) лимонноаммиачное зеленое или железо (III) лимонноаммиачное коричневое	0,5
Натрий хлористый	3,5
Натрий углекислый	0,1 - 0,3
Агар микробиологический	11,0±3,0

Состав СД, г/л:

Полимиксина В сульфат	0,01
Налидиксовая кислота	0,025
Акрифлавин	0,01

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов обеспечивает рост листерий не позднее 48 ч инкубации при температуре (37±1) °С и подавляет рост эшерихий, протеев и стафилококков.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру 37 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри
- Вода дистиллированная
- Колбы

- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в клинической, санитарной и пищевой микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление среды ПАЛ.

Препарат в количестве, указанном на этикетке, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 3 мин до полного расплавления агара, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин.

7.1.1 Приготовление среды ПАЛ с селективной добавкой.

Содержимое флакона с селективной добавкой растворяют в 5 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивают и вносят в стерильную, охлажденную до температуры 50-55 °С среду ПАЛ из расчета 5 мл на 1 л среды.

Готовая среда в чашках прозрачная желто-зеленого цвета.

Готовую среду, разлитую в чашки Петри, можно использовать в течение 7 суток при температуре хранения 2-8 °С.

7.2. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ Р 51921-2002 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий *Listeria monocytogenes*», МУК 4.2.1122-02 «Организация контроля и методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах».

7.3. Исследуемый материал засевают соответственно на две чашки Петри со средой ПАЛ и стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности среды. Инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ не более 48 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят не позднее 48 ч инкубации посевов при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, визуальное учитывание наличия и характера роста.

Колонии *L. monocytogenes* – мелкие, круглые, серо-желтого цвета, диаметром 0,4-1,2 мм с образованием вокруг колоний черной зоны.

Колонии *L. ivanovi* – мелкие, круглые, серо-желтого цвета, диаметром 0,2-1,0 мм с образованием вокруг колоний черной зоны.

72

Для получения достоверных результатов посевы образцов производить не менее чем в трех повторностях.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор реагентов необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности набора реагентов: среды ПАЛ – 2 года, СД - не менее срока годности среды. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «Питательный агар для выделения листерий (СРЕДА ПАЛ)» в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.

Зам. директора

по научно-производственной работе

А.П. Шепелин

«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой КЛД ГОУ ДПО «РМАПО»

Д.м.н. профессор

В.В. Долгов

«23» августа 2010 г.



Пронумеровано, прошнуровано,
скреплено и печатью

ЛИСТОВ
" 15 "



Handwritten signature and date: 2010 г.

